

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) RU ⁽¹¹⁾ **2 620 594** ⁽¹³⁾ C1ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(51) МПК

[C07D 487/04 \(2006.01\)](#)[A61K 31/519 \(2006.01\)](#)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Статус: действует (последнее изменение статуса: 18.03.2019)
Пошлина: учтена за 3 год с 27.04.2018 по 26.04.2019(21)(22) Заявка: [2016116416](#), 26.04.2016(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
26.04.2016

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 26.04.2016

(45) Опубликовано: [29.05.2017](#) Бюл. № 16

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: К. В. Саватеев и др. "Структурные аналоги ингибиторов аденозиновых рецепторов в ряду 1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидинов" Известия академии наук. Серия химическая, №6, 2015, 1378-1384. WO 2006083949 A2, 10.08.2006. RU 233036 C1, 27.07.2008.

Адрес для переписки:

620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19,
УрФУ, ЦИС, Маркс Т.В.

(72) Автор(ы):

Русинов Владимир Леонидович (RU),
Саватеев Константин Валерьевич (RU),
Уломский Евгений Нарциссович (RU),
Федотов Виктор Владимирович (RU),
Сивак Константин Владимирович (RU),
Васин Андрей Владимирович (RU),
Деева Элла Германовна (RU),
Саватеева-Любимова Татьяна Николаевна (RU)

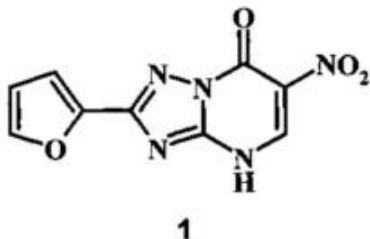
(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования "Уральский федеральный
университет имени первого Президента
России Б.Н.Ельцина" (RU),
Федеральное государственное бюджетное
учреждение "Научно-исследовательский
институт гриппа" Министерства
здравоохранения Российской Федерации (RU)

(54) 2-ФУРИЛ-6-НИТРО-1,2,4-ТРИАЗОЛО[1,5-а]ПИРИМИДИН-7-ОН

(57) Реферат:

Изобретение относится к 2-фурил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидин-7-ону.



Технический результат: получено новое соединение, которое может применяться при лечении сепсиса. 1 табл., 1 пр.

1. Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к области биологически активных соединений и касается 2-фурил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидина, обладающего

фармакологической активностью и предназначенного для комплексного лечения сепсиса у человека и животных. Изобретение может быть использовано в научно-исследовательских лабораториях, химико-фармацевтической промышленности, лечебных учреждениях, а также в ветеринарии.

2. Уровень техники

Сепсис – это клинический диагноз системной воспалительной реакции, возникающей при распространении инфекционного агента из первичного очага по кровеносной и/или лимфатической системе в другие органы. Сепсис характеризуется тяжелым течением и развитием дисфункции многих органов и систем.

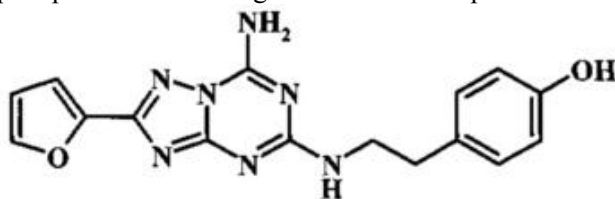
Возбудителями сепсиса являются бактерии (95% случаев), грибы, вирусы, простейшие. Среди микроорганизмов из крови пациентов высеивали *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecium*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Flavobacterium* spp., *Candida* spp. Наиболее часто сепсис развивается как осложнение таких заболеваний, как абдоминальная травма, прободение язвы кишечника, пиелонефрит, пневмония, тяжелый грипп. К вторичным осложнениям гриппа относятся вирусно-бактериальная пневмония, легочный дистресс-синдром и септический шок, которые трудно поддаются терапии, в том числе из-за позднего выявления, с одной стороны, а также наличия отягчающих факторов в виде неблагоприятного преморбидного фона пациента, с другой.

Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) протекает в три стадии. Первая стадия ОРДС иногда называется фазой повреждения и связана с увеличением проницаемости легочных капилляров с повышением содержания внесосудистой воды в легких, что приводит к снижению индекса оксигенации менее 300 на фоне отсутствия признаков левожелудочковой недостаточности. Во вторую стадию развивается выраженная одышка, гипоксия с гипоканией, индекс оксигенации падает ниже 200, легочный шунт составляет 20-40%, рентгенологически выявляются диффузные двусторонние инфильтраты в легких, пневмония. В третью стадию развивается полиорганная недостаточность, кома, легочный шунт 50-60%, метаболический ацидоз, ригидность легких, нарушения гемодинамики, легочная инфекция, летальный исход (Мороз В.В., Голубев А.М. Классификация острого респираторного дистресс-синдрома / Общая реаниматология, 2007, т. 3(5-6). - С. 7-9).

В соответствии с природой доминантных возбудителей сепсиса для лечения используют прежде всего противомикробные препараты группы карбапенемов, такие как меропенем, имипенем (Tomaselli F., Maier A., Matzi V., Smolle-Juettner F.M., Dittrich P. Penetration of Meropenem into Pneumonic Human Lung Tissue as Measured by In Vivo Microdialysis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2004, vol. 48, №6, p. 2228-2232, N. Balaban. Use of rip in treating staphylococcus aureus infections. WO 2006/107945 A2, 2006), амоксициллин (C.N. Wilson. Methods and pharmaceutical composition for treating sepsis. S2006/276378 A1, 2006), принадлежащие к группе гетероциклических β-лактамов антибиотиков. Из группы аминогликозидов используется гентамицин (Jaspers K., Speelberg B., Van Marwijk K., Ruys V. Meropenem versus Cefuroxime plus Gentamicin for Treatment of Serious Infections in Elderly Patients. *Antimicrobial Agents and py*, 1998, vol. 42, p. 1233-1238), из стероидов - кортикостероиды (M. Levy, A. Antunes, L. Fiette, A.-E. Deghmane, M.-K. Taha. Impact of corticosteroids on experimental meningococcal sepsis in mice. 2015, *Steroids*, vol. 101, p. 96-102). Азотсодержащие гетероциклические средства также представлены в качестве средств против сепсиса, прежде всего левофлоксацин и другие фторхинолоны (Nakayama K., Ishida Y., Ohtsuka M., et al. MexAB-OprM specific efflux pump inhibitors in *Pseudomonas aeruginosa*. Part 2: achieving activity in vivo through the use of alternative scaffolds / *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2003, vol. 13, p. 4205-4208). В литературе имеются данные о противосептическом действии пиперидиновых производных (циноменин, Y. Jiang, M. Gao, W. Wang, Y. Lang, Z. Tong, K. Wang, H. Zhang, G. Chen, M. Liu, et al. Sinomenine Hydrochloride Protects against Polymicrobial Sepsis via Autophagy. *Int. J. Mol. Sci.* 2015, vol. 16, p. 2559-2573), тиазолов (H. Jung Park, Won Lee, H. Park, S.-H. Park, S. Hong. A Tubulin Inhibitor, N-(5-Benzyl-1,3-thiazol-2-yl)-3-(furan-2-yl)prop-2-enamide, Induces Anti-inflammatory Innate Immune Responses to Attenuate LPS-mediated Septic Shock. *Bull. Korean Chem. Soc.* 2014, vol. 35, p. 3307), индолов (A. Ozdemir, M. Dilek Altıntop, G. Turan-Zitouni, Güls, et al. Synthesis and evaluation of new indole-based chalcones as potential antiinflammatory agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015, vol. 89, p. 304-309), имидазолов, хинолинов, изохинолинов, акридинов (Chih-Hua Tseng, Chang-Sheng Lin, Pin-Keng Shih, Lo-Ti Tsao, Jih-Pyang Wang, et al. Furo [3, 20 : 3,4]naphtho[1,2-d]imidazole derivatives as potential inhibitors of inflammatory factors in

sepsis. Bioorg. & Med. Chem. 2009, vol. 17, p. 6773-6779, - H. Park, In-C. Hwang, N. Ha, S. Lee, J.M. Kim, S.S. Lee, H. Yu, In-T. Lim, et al. Effects of the Anti-sepsis Drug, (S)-1-(α -Naphthylmethyl)-6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (CKD-712), on Mortality, Inflammation, and Organ Injuries in Rodent Sepsis Models. Arch. Pharm. Res. 2011, vol 34, p. 485-494).

Наконец, имеются данные о действии полифункционального 1,2,4-триазоло[1,5-*a*] [1,2,4]триазина ZM 241385 при сепсисе (Hasko, G., Nemeth, H., Bleich, D., Deitch, E. Sepsis prevention through adenosine receptor modulation. WO 2006/083949. 25.02.2005).

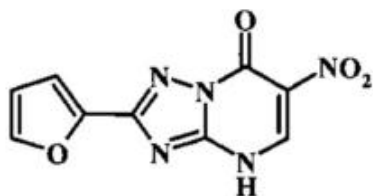


ZM 241385

В цитированной работе установлена взаимосвязь между действием против сепсиса и ингибированием аденозиновых рецепторов. Соединение ZM 241385 известно в качестве одного из наиболее эффективных ингибиторов рецепторов типа A_{2A} , кроме того, оно является близким структурным аналогом заявляемого соединения (1).

3. Сущность изобретения

Сущность изобретения составляет 2-фурил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидин формулы (1), обладающий фармакологической активностью на модели сепсиса.



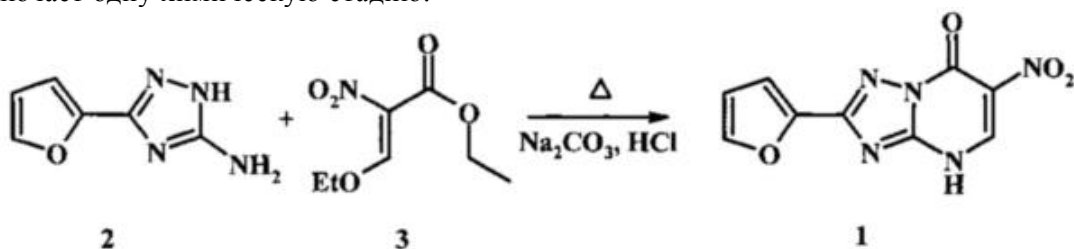
1

В качестве прототипа (препарат сравнения) использован карбапенемный антибиотик меропенем в монотерапии в качестве эталонного средства терапии сепсиса.

4. Сведения, подтверждающие сущность изобретения

4.1. Синтез 2-фурил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7-она (1)

Процесс получения 2-фурил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7-она (1) включает одну химическую стадию:



Заявляемое соединение - 2-фурил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидин-4-он (1) имеет следующие физико-химические характеристики: желтое вещество, $T_{пл} > 300^\circ\text{C}$ растворимо в диметилформамиде, диметилсульфоксиде, не растворимо - в хлороформе, этаноле, бензоле. Найдено, %: С 43,65 Н 2,01 N 28,30. Брутто-формула $\text{C}_9\text{H}_5\text{N}_5\text{O}_4$. Вычислено, %: С 43,73 Н 2,04 N 28,33. Спектр ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- D_6), δ (м.д.): 6,64 (м, 1H, CH), 7,20 (м, 1H, CH), 7,83 (м, 1H, CH), 9,19 (с, 1H, CH).

Способ получения 2-фурил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7-она (1) демонстрируется следующим примером.

Пример 1. Получение 2-фурил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7-она (1).

В стакан объемом 50 мл загружают 1,5 г (0,01 моль) 3-фурил-5-амино-1,2,4-триазол (2) и приливают 1,7 мл (0,0105 моль) этил 2-нитро-3-этоксикарилата (3). Полученную смесь нагревают при 70°C 30 минут. Смесь охлаждают до комнатной температуры и приливают 5 мл (0,01 моль) 2 М карбоната натрия, перемешивают 45 минут при $20-25^\circ\text{C}$, затем суспензию фильтруют, полученный осадок суспендируют в 7 мл воды и приливают 0,8 мл (0,01 моль) 11 М соляной кислоты. Образовавшийся осадок отфильтровывают и сушат на воздухе.

Выход 2-фурил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидин-4-она (1) - 2,1 г (87%).

4.2. Действие 2-фурил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидин-7-она в отношении сепсиса

4.2.1. Материалы и методы

4.2.1.1. Экспериментальные животные

4.2.1.1.1. Источник животных

Мыши-самцы альбиносы были получены из сертифицированного питомника «ПЛЖ «Рапполово» (ветеринарное свидетельство 247 №0141904 от 30.10.2015 г. В период карантина (30 дней) материал от животных исследовался в государственной ветеринарной лаборатории ФГБУ «ЛМВЛ» и были получены отрицательные результаты при исследовании на сальмонеллез (эксп. 48460-48464).

4.2.1.1.2. Карантин/адаптация

Прибывшие животные до начала исследования были помещены в отдельную комнату на период адаптации (7 дней). Во время этого периода у животных контролировали проявление отклонений в состоянии здоровья (поведение, общее состояние) ежедневно при общем осмотре в клетке.

4.2.1.1.3. Распределение по группам

Перед началом исследования животные, отвечающие критериям включения в исследование, были распределены на группы с помощью метода рандомизации с использованием в качестве основного критерия массы тела, таким образом, чтобы индивидуальное значение массы тела входило в диапазон вариации $\pm 10\%$ от среднего значения показателя в группах.

4.2.1.1.4. Содержание и уход

Основные правила содержания и ухода соответствовали нормативам, изложенным согласно Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию вивариев СП 2.2.1.3218-14 от 29 августа 2014 года №51 и «European Convention for the Protection of Vertebral Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. CETS No. 123». Все процедуры по рутинному уходу за животными выполняли в соответствии с принятыми требованиями ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России по работе в виварии.

4.2.1.1.5. Параметры окружающей среды

Контроль параметров окружающей среды осуществляли ежедневно на всем протяжении исследования. Температура воздуха поддерживалась в пределах 18-22°C, относительная влажность - 55-65%. Фотопериод 12 часов ночь - 12 часов день при искусственном освещении лампами дневного света.

4.2.1.1.6. Клетки

Животные содержались в виварии ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России. Клетки для мышей были оборудованы стальными решетчатыми крышками с кормовым углублением, стальным разделителем для корма и воды.

4.2.1.1.7. Подстил

В качестве подстилочного материала был использован гранулированный наполнитель растительного происхождения. Подстил подвергался стерилизации.

4.2.1.1.8. Корм

Корм не содержал патогенной микрофлоры, способной повлиять на результаты исследования.

4.2.1.1.9. Вода

Животные получали чистую питьевую воду без ограничений. Вода в поилках была фильтрованная, обеззараженная облучением ультрафиолетом, не содержала патогенной микрофлоры, способной повлиять на результаты исследования.

4.2.2. Исследование на модели сепсиса с ОРДС

Моделирование сепсиса осуществляли заражением культурой *Klebsiella pneumoniae* штамм NCTC5054 в дозе 50×10^9 КОЕ/кг массы тела, которую вводили интраплеврально в объеме 0,02 мл на животное (20 г). Эксперимент выполняли на 80 мышах.

Исследуемое соединение растворяли в 10% растворе диметилсульфоксида (ДМСО) и вводили животным внутрибрюшинно в течение 3 дней в суточной дозе 5-50 мг/кг на фоне введения меропенема (карбапенемный антибиотик), который использован в качестве прототипа в монотерапии. В качестве прототипа (препарата сравнения) меропенем вводили в дозе 200 мг/кг внутрибрюшинно. Плацебо - 10% ДМСО. Проведение экспериментального лечения осуществляли через 24 ч после заражения.

Регистрировали выживаемость мышей и величину инфильтрации легочной ткани лейкоцитами на 7 сутки после заражения (на 5 сутки после начала терапии) в контрольной и опытных группах. Результаты отражены в таблице 1.

4.2.3. Результаты оценки выживаемости мышей на фоне септического шока

Результаты биологического скрининга соединений представлены в таблице 1.

Таблица 1

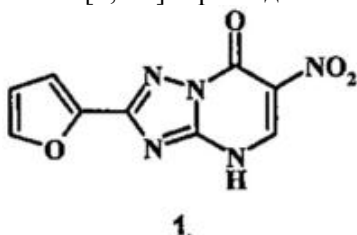
Влияние производного триазолопиримидина (1) на выживаемость мышей на модели сепсиса с острым респираторным синдромом при заражении *Klebsiella pneumoniae*.

Группа/Вещество	Эффект, погубило/всего	Выживаемость, %	Инфильтрация легких, баллы
Интактные	0/10	100 %	±
Плацебо	10/10	0 %	+++
Меропенем, 200 мг/кг	4/10*	60 %	++
Меропенем, 200 мг/кг + (1), 50 мг/кг	2/10**	80 %	+
Меропенем, 200 мг/кг + (1), 25 мг/кг	3/10*	70 %	++
Меропенем, 200 мг/кг + (1), 10 мг/кг	4/10*	60 %	++
Меропенем, 200 мг/кг + (1), 5 мг/кг	4/10*	60 %	++
(1), 50 мг/кг	4/10*	60 %	++
* $p \leq 0,05$ по отношению к группе плацебо; ** $p \leq 0,05$ по отношению к группе меропенем, 200 мг/кг			

Как в комбинации с антибиотиком, так и отдельно соединение (1) обладает защитным действием в отношении выживаемости и лейкоцитарной инфильтрации легких при заражении *Klebsiella pneumoniae*. Таким образом, видно, что заявляемое соединение в комбинации с антибиотиком меропенемом обладает существенно более высокой активностью в отношении сепсиса в сравнении с монотерапией прототипом - меропенемом.

Формула изобретения

2-Фурил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5-a]пиримидин-7-он 2-фурил-6-нитро-1,2,4-триазоло[1,5-a]пиримидин-7-он формулы 1



ИЗВЕЩЕНИЯ

ММ4А Досрочное прекращение действия патента из-за неуплаты в установленный срок пошлины за поддержание патента в силе

Дата прекращения действия патента: **27.04.2018**

Дата внесения записи в Государственный реестр: **05.03.2019**

Дата публикации и номер бюллетеня: [05.03.2019](#) Бюл. №07

NF4А Восстановление действия патента

Дата, с которой действие патента восстановлено: **14.03.2019**

Дата внесения записи в Государственный реестр: **14.03.2019**

Дата публикации и номер бюллетеня: [14.03.2019](#) Бюл. №08